

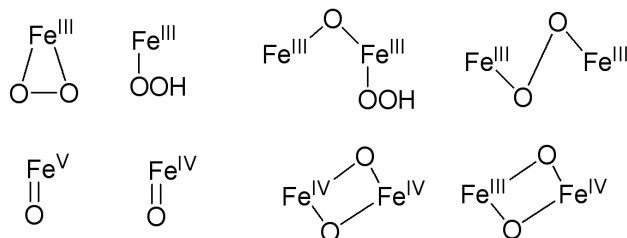
Bruckner-termi előadás

Lakk-Bogáth Dóra–Szávuly Miklós István–Speier Gábor–Kaizer József

PE Kémia Intézet, Bioszerves és Biokordinációs Kémiai Kutatócsoport | kaizer@almos.vein.hu

Nem-hem-típusú oxidáz és oxigenáz enzimek szintetikus modelljei: szerkezet, reaktivitás, katalízis

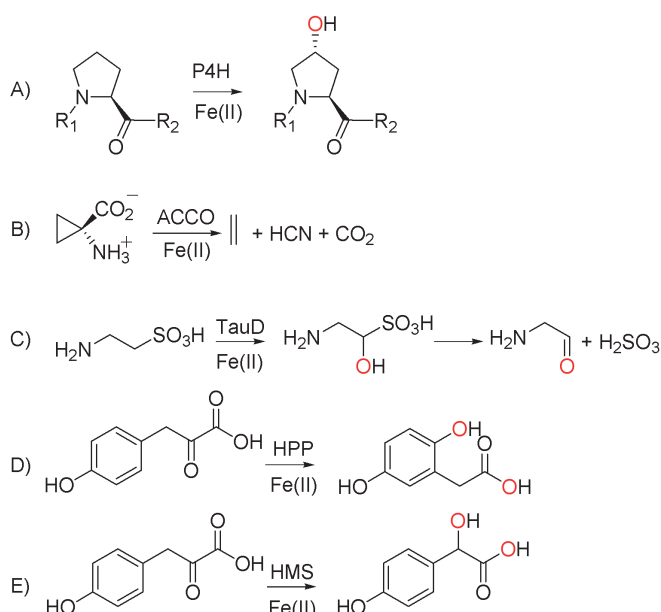
A dioxigént felhasználó metalloenzimek (oxidoreduktázok) és szintetikus modelljeik kapcsán az elsődleges kérdés, hogy a dioxigén aktiválása milyen módon, milyen lépéseken keresztül valósul meg. Ennek megértésében sokat segíthet az intermedier-kutatás, amelynek feladata, hogy az enzimyományokban és az azokat modellező biotartalmazó rendszerekben a reaktív intermedierek elkülönítésén és spektroszkópiailag jellemzésén keresztül információt nyújtson a dioxigén- és rajta keresztül a szubsztrátaktiválás mechanizmusáról. A vastartalmú oxidoreduktázok csoportosítása az aktív centrumban lévő fémionok száma (egy-, illetve kétfémű) és a fémeket körülvevő ligandumok (porfirin, aminosavak...) alapján történik. Utóbbiak szerint beszélhetünk hem-, illetve nem-hem-típusú enzimekről. A termodinamikailag inert dioxigén-molekula aktiválását reaktív vas-peroxo- és oxo-intermedierek képződésén keresztül képzelik el, amelyek reakciója a megfelelő szubsztrátum molekulával már könnyen értelmezhető (1. ábra).



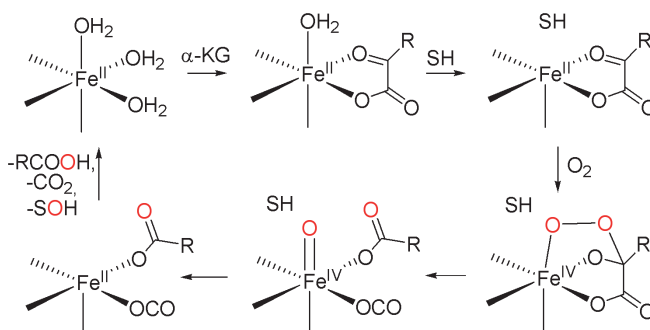
1. ábra. Vastartalmú enzimek reaktív intermedierei

A nem-hem-típusú enzimek kitüntetett csoportját képezik az ún. α -ketosav-függő oxidázok és oxigenázok (2. ábra). Ide sorolható például a prolil 4-hidroxiláz (P4H) (A), az 1-aminociklopropán-1-karboxilsav-oxidáz (ACCO) (B), a taurin-dioxigenáz (TauD) (C), a 4-hidroxifenilpiruvát-dioxigenáz (HPP) (D) és a 4-hidroximandelát-szintáz (HMS) (E). Az α -ketoglutarát szerepe a magas vegyértékű vas-oxo-intermedierek kialakításában van, ami a 3. ábrán feltüntetett lépéseken keresztül valósul meg. [1]

Az első szintetikus $\text{Fe}^{\text{IV}}\text{O}$ komplexek $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{TMC})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ (TMC: 1,4,8,11-tetrametil-ciklám) [2], $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{TPA})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}$ (TPA: trisz(2-piridil-metil)-amin) [3, 4], $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{BPMC})]^{2+}$ (β -BPMC: *N,N'*-dimetil-*N,N'*-bis(2-piridil-metil)-*transz*-1,2-diamino-ciklohexán) [5], $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{N4Py})]^{2+}$ (N4Py: *N,N*-bis(2-piridil-

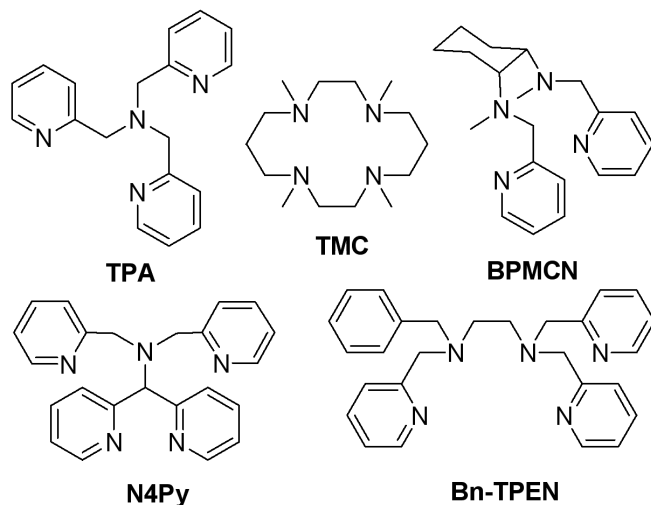


2. ábra. α -Ketosav-függő oxidoreduktázok



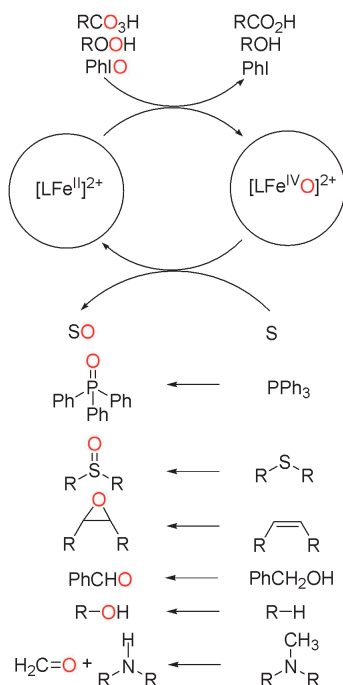
3. ábra. α -Ketosav-függő oxidoreduktázok feltételezett mechanizmusa

metil)-bis(2-piridil)-metil-amin és $[\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})(\text{Bn-TPEN})]^{2+}$ (Bn-TPEN: *N*-benzil-*N,N',N'*-tris(2-piridil-metil)-1,2-diamino-etán)} előállításához többnyire *N*-donoratomot tartalmazó, polipiridil-típusú ligandumokat használtak fel (4. ábra) [6, 7].



4. ábra. Néhány példa a $[LFe^{IV}O]^{2+}$ intermedierek előállításához használt ligandumokra

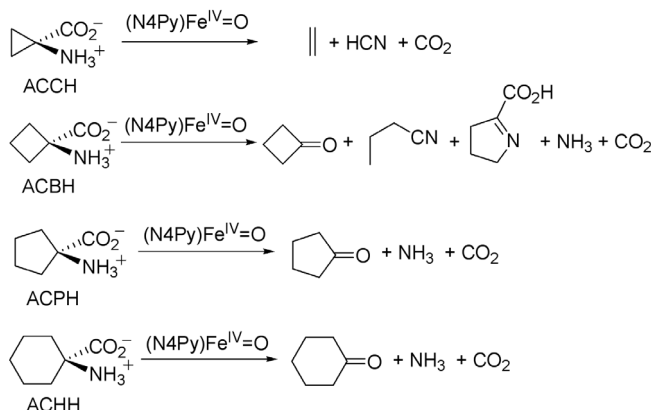
A fenti intermedierek a megfelelő $[LFe^{II}]^{2+}$ prekursor komplex és oxidálószer (PhIO, $RC(O)OOH$, $RCOOH$) sztöchiometrikus mennyiségű reakciójával írható le (5. ábra). A komplexek szerkezetét UV-VIS, EXAFS és ^{57}Fe -Mössbauer-spektroszkópiával írták le [8, 9]. A képződő intermedierek spinállapotát, termikus stabilitását és reaktivitását nagymértékben meghatározza az alkalmazott ligandum szerkezete. Az ötfogú ligandumok (Bn-TPEN, N4Py) esetében szobahőmérsékleten is stabilis $Fe^{IV}O$ szerkezetekhez jutottak ($t_{1/2}$ = 6 és 60 h), ami lehetővé tette a $[Fe^{IV}(O)(N4Py)]^{2+}$ komplex röntgendiffrakciós szerkezetének a meghatározását is [7]. A $[Fe^{IV}(O)(N4Py)]^{2+}$ komplex nagyfokú stabilitása mellett kiemelő, hogy alkalmazásával igen változatos reakciók dolgozhatók ki (pl. oxigéntranszfer, CH-aktiválás...), amelyek a modellezni kívánt enzimyományatok elemi lépéseinek tekinthetők (5. ábra) [1, 6].



5. ábra. $Fe^{IV}O$ intermedierek előállítása és reaktivitása

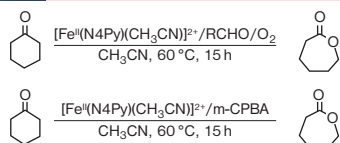
Az etilén az egyik legegyszerűbb növényi hormon, amely többek közt a növények növekedési, érési, csírázási és öregedési folyamataiért felelős. Bioszintézisének az utolsó lépése az 1-amino-ciklopropán-1-karbonsav átalakítása, melyet a vas(II)tartalmú

ACCO enzim katalizál. Az enzimyományat mechanizmusának tisztázása céljából hem-, illetve nem-hem-típusú katalitikus rendszereket dolgoztunk ki az 1-amino-ciklopropán-1-karbonsav oxidációjára [10]. Katalizátorként a $[Fe^{III}(TPP)]^{+}$ és $[Fe^{II}(N4Py)(CH_3CN)]^{2+}$ komplexeket, oxidálószerként pedig a hidrogén-peroxidot választottuk. A reakciókat DMF/víz 3:1 arányú elegyében, 35 °C-on végeztük. Megállapítottuk, hogy mindkét esetben az enzimatikus útnak megfelelő terméket (etilént) eredményező, nagy hatékonyságú és nagy szelektivitású bioutánzó rendszerekhez jutottunk, amelyek *Michaelis-Menten*-típusú kinetikával írhatóak le. Eredményként a $[Fe^{III}(TPP)]^{+}$ és $[Fe^{II}(N4Py)(CH_3CN)]^{2+}$ -tartalmú rendszerekre, sorrendben, a következő értékekhez jutottunk: $V_{max} = 27,9 \times 10^{-3} \text{ Ms}^{-1}$, $K_M = 2,41 \times 10^{-3}$, $k_{cat} = 0,28 \text{ s}^{-1}$, $k_{cat}/K_M = 116 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ és $V_{max} = 0,58 \times 10^{-3} \text{ Ms}^{-1}$, $K_M = 13,7 \times 10^{-3}$, $k_{cat} = 0,58 \text{ s}^{-1}$, $k_{cat}/K_M = 42 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Mivel a $[Fe^{II}(N4Py)(CH_3CN)]^{2+}$ -tartalmú rendszerben a $Fe^{IV}O$ intermedierek képződése is kimutatható volt, ezért reakciókinetikai vizsgálatainkat kiterjesztettük az indirekt módon előállított $[Fe^{IV}(O)(N4Py)]^{2+}$ és az 1-amino-ciklopropán-1-karbonsav, illetve további ciklikus aminosavak között lejátszódó reakciókra is, amelyek az enzimyományat elemi lépéseként is értelmezhetők (6. ábra). A kapott kísérleti eredmények alapján, amelyeket DFT számításokkal is kiegészítettünk, javaslatot tettünk a reakciók mechanizmusára, amely kulcslépése a képződő $Fe^{IV}O$ által lejátszódó N-H aktiválás. [11]

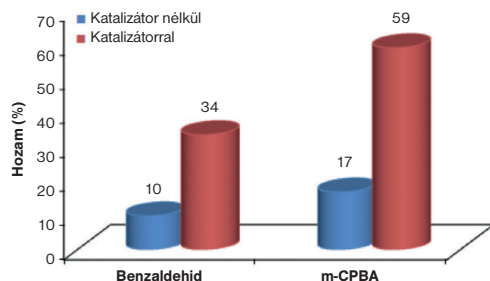
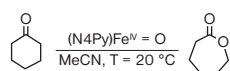


6. ábra. Ciklikus aminosavak sztöchiometrikus oxidációja

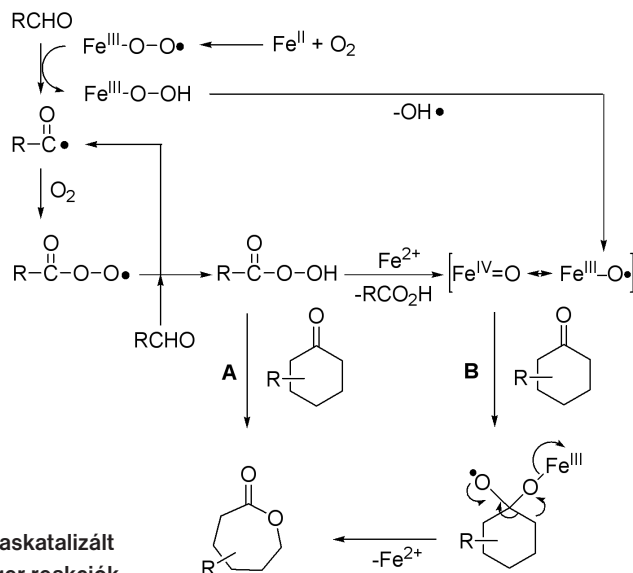
Mivel az irodalomban számos példa található vaskatalizált oxigéntranszferrel járó szulfoxidálásra, illetve epoxidálásra, ezért a $[Fe^{II}(N4Py)(CH_3CN)]^{2+}$ komplex katalitikus aktivitásának vizsgálatát további vegyületcsaládokra is kiterjesztettük, nevezetesen a ciklikus ketonok *Baeyer-Villiger*-oxidációjára. A klasszikus eljárás szerint a laktonok ipari (polimer, gyógyszer...) előállítására oxidálószerként peroxisavakat vagy peroxidokat használnak. Munkánk célja az volt, hogy a sztöchiometrikus, vegyszeres oxidáción alapuló eljárást nagy hatékonyságú és nagy szelektivitású homogén katalitikus rendszerre alakítsuk át. Katalizátorként a $[Fe^{II}(N4Py)(CH_3CN)]^{2+}$ komplexet, oxidálószerként pedig az *m*-klór-perbenzoesavat (*m*-CPBA) és $RCHO/O_2$ -ot használtuk. Megállapítottuk, hogy a komplex katalitikus mennyiségű használata mindkét oxidálószer esetében jelentős hozamnövekedést eredményezett (7. ábra). Mivel a reakcióelegyben a $Fe^{IV}O$ intermedierek képződése is kimutatható volt, ezért reakciókinetikai vizsgálatainkat kiterjesztettük az indirekt módon előállított $[Fe^{IV}(O)(N4Py)]^{2+}$ és a ciklohexanon között lejátszódó reakcióra is, amely a katalitikus reakció elemi lépéseként is értelmezhető (7. ábra). A kapott kísérleti eredmények alapján javaslatot tettünk a reakció mechanizmusára (8. ábra). [12]



$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{N4Py})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}_0 = 1,00 \times 10^{-5}\text{ M}$, $[\text{cyclohexanon}]_0 = 1,00 \times 10^{-2}\text{ M}$,
 $[\text{benzaldehyd}]_0 = 1,50 \times 10^{-1}\text{ M}$ vagy $[\text{m-CPBA}]_0 = 1,50 \times 10^{-1}\text{ M}$.



7–8. ábra. Vaskatalizált Baeyer–Villiger-reakciók



Köszönetnyilvánítás. A kutatás az Országos Tudományos Kutatási Alapprogram (OTKA K108489) finanszírozásával valósult meg.

IRODALOM

- [1] M. Costas, M. P. Mehn, L. Que, Jr., *Chem. Rev.* (2004) 104, 939.
- [2] J.-U. Rohde, J. H. In, M. H. Lim, W. W. Brennessel, M. R. Bukowski, A. Stubna, E. Münck, W. Nam, L. Que, Jr., *Science* (2003) 299, 1037.
- [3] M. H. Lim, J.-U. Rohde, A. Stubna, M. R. Bukowski, M. Costas, R. Y. N. Ho, E. Münck, W. Nam, L. Que, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2003) 100, 3665.
- [4] J. Kaizer, M. Costas, L. Que, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* (2003) 42, 3671.
- [5] M. P. Jensen, M. Costas, R. Y. N. Ho, J. Kaizer, A. Mairata y Payeras, E. Münck, L. Que, Jr., J.-U. Rohde, A. Stubna, *J. Am. Chem. Soc.* (2005) 127, 10512.

- [6] J. Kaizer, E. J. Klinker, N. J. Oh, J. U. Rohde, W. J. Song, A. Stubna, E. Münck, W. Nam, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc., Chem. Commun.* (2004) 126, 472.
- [7] E. J. Klinker, J. Kaizer, W. W. Brennessel, N. L. Woodrum, C. J. Cramer, L. Que, Jr., *Angew. Chem. Int. Ed.* (2005) 44, 3690.
- [8] A. R. McDonald, L. Que, Jr., *Coord. Chem. Rev.* (2013) 257, 414–428.
- [9] J.-U. Rohde, S. Torelli, X. P. Shan, M. H. Lim, E. J. Klinker, J. Kaizer, K. Chen, W. Nam, L. Que, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* (2004) 126, 16750.
- [10] G. Baráth, J. Kaizer, J. S. Pap, G. Speier, N. E. Bakkali-Taheri, A. J. Simaan, *Chem. Commun.* (2010) 46, 7391.
- [11] D. Lakk-Bogáth, G. Speier, M. Surducun, R. Silaghi-Dumitrescu, A. J. Simaan, B. Fature, J. Kaizer, R. S. C. *Advances* (2015) 5, 2075.
- [12] D. Lakk-Bogáth, G. Speier, J. Kaizer, *New J. Chem.* (2015) 39, 8245.

Frank Éva–Wölfling János–Schneider Gyula

■ SZTE TTIK Szerves Kémiai Tanszék, Szteroidkémiai Kutatócsoport

Új vegyületek, új hatások

Szteroidkémiai kutatások Szegeden

Az SZTE Szerves Kémiai Tanszékén a természetes eredetű szerves vegyületek kutatása több évtizedes múltra tekint vissza. A korábban folyó peptidkémiai, alkaloidkémiai és heterociklusos molekulákkal folytatott intenzív kutatások a múlt század hatvanas éveitől kezdve a szteránvázis vegyületekkel végzett kísérletes munkákkal egészültek ki. Ez utóbbi tématerület a mai napig is a Tanszék egyik fő kutatási profilját képezi. A Szteroidkémiai Kutatócsoport különböző alapvázú szteroidszarmazékok (elsősorban természetes nemi hormonok és analogonjaik) szintetikus szerkezetmódosításával foglalkozik. A nemi

hormon receptorok szerkezetére és az endogén ligandumok kötődésére vonatkozó információink mára jelentősen kibővültek és az is ismertté vált, hogy a természetes szteroidok alapvázán végzett kémiai módosításokkal a hormonhatás háttérbe szorítása mellett egy merőben új főhatás léphet előtérbe. Közismert, hogy napjainkban a rákos megbetegedések gyakorisága igen magas, továbbá, hogy a nemi hormonok bizonyos ráktípusok (elsősorban emlő-, petefészek- és prosztaták) kialakulásában, illetve progressziójában alapvető szerepet játszanak. Fő célként ezért olyan módosított nemi hormon szarmazékok kutá-

tására helyezzük a hangsúlyt, melyek valamilyen módon beavatkozhatnak ebbe a folyamatba. Az átalakítások az egyszerű funkciós csoportok beépítésén túlmenően gyűrűfelnyitási és gyűrűbővítési reakciókra, heterociklusos származékok szintézisére, valamint a szteroidok egyéb bioaktív molekulákkal képzett hibridjeinek előállítására terjednek ki. A természetes vegyületek és származékaik 3-as, 17-es és 20-as helyzetű funkciós csoportjai kézenfekvő lehetőséget biztosítanak a szintetikus átalakításra, valamint a szomszédos (C–2, C–4, C–16, C–21) helyzetű szubsztitúciók is viszonylag könnyen megvalósíthatók a